

## 極端氣候下水質益生菌應用於水產養殖之調適探討

劉媿媿、陳建彰、邱詠傑、楊順德  
淡水養殖研究中心

水產養殖業已逐漸普遍利用益生菌改善水質及抑制病原菌，惟氣候變遷導致極端高低溫事件頻率與持續時間增加，進而影響養殖池水中微生物相。現行市售水產益生菌雖多已完成基本功能性試驗，仍缺乏於不同溫度條件下的水質改善與病原菌抑制效果之評估。常用益生菌以芽孢桿菌群與光合細菌群為主，惟產品差異大，且水溫變動及消毒藥劑或抗生素使用，易影響其活性與菌量；同時，現場缺乏可即時檢測水體中益生菌濃度之工具，使施用缺乏客觀依據。因此，本研究以芽孢桿菌群為對象，評估其於不同溫度下之水質改善與病原菌抑制效果，並開發快速檢測套組，作為養殖現場調整益生菌施用時機與劑量之依據。

本研究益生菌主要選用短小芽孢桿菌 (*Bacillus pumilus* D5) 與液化澱粉芽孢桿菌 (*B. amyloliquefaciens*)，病原菌為產氣單胞菌 (*Aeromonas hydrophila*)，在 17、22、27、32°C 和極端溫度 (12、37°C) 下培養，*A. hydrophila* 最適生長溫度為 22 – 27°C，12°C 仍可生長；芽孢桿菌最適溫度為 27 – 32°C，17°C 條件下生長速度低於 *A. hydrophila*，需等到 72 小時後，菌數才明顯增加，12°C 則幾乎停止生長。

在益生菌與病原菌的抑制試驗發現，起始菌量皆為  $10^3$  CFU/ml 條件下，在 24 小時內，17 和 22°C 下二株芽孢桿菌的抑制率皆達 70% 以上，隨著混合培養時間拉長，抑制率反而開始下降；在 27、32°C 下，抑制率隨著時間拉長而上升；高溫 37°C 下抑制率則維持 83.46% 以上；低溫 12°C 下抑制率則在 72 小時後才上升至 58.5%。而以益生菌與病原菌起始菌量分別為  $10^4$  和  $10^2$  CFU/ml 培養 72 小時，27°C 條件下，抑制率可改善至少 86.54%；而在 32°C 下抑制率最高可改善 141.21%。

二株芽孢桿菌的除氨能力 (%) 隨著溫度增加而

上升，並以 27°C 時的除氨能力最佳，*B. pumilus* D5 和 *B. amyloliquefaciens* 分別為 67.15 及 64.77%，隨著溫度繼續上升而下降，在低溫 12°C 時，分別為 17.54 及 -8.53%，高溫 37°C 時分別為 48.33 及 7.61% (圖 1)。

本研究成功研發可快速選別水產常用芽孢桿菌之專一性檢測套組，能準確辨識 *B. pumilus* D5、*B. amyloliquefaciens*、貝萊斯芽孢桿菌 *B. velezensis* 與池水分離的 *Bacillus* sp. 等 4 株菌，同時有效抑制 15 種養殖池常在菌生長。在菌量範圍內準確檢測三株芽孢桿菌 (*B. pumilus* D5、*B. velezensis*、*B. amyloliquefaciens*) 的活性，並以呈色時間作為的菌量指標，結果顯示，在低菌量條件下 ( $10^1$  CFU/ml)，以上 3 株菌仍能於 30 – 35 小時內，產生可辨識的呈色反應 (圖 2)，顯示本試劑的最低檢測濃度達  $10^1$  CFU/ml。本試劑具備操作簡易、無需儀器、靈敏度高與可視化判定等特性，具有應用於養殖現場檢測益生菌芽孢桿菌的潛力。

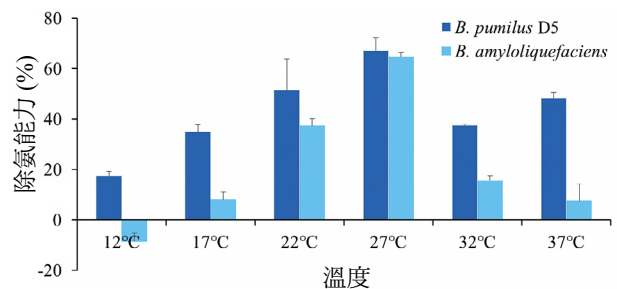


圖 1 不同溫度下芽孢桿菌的除氨能力

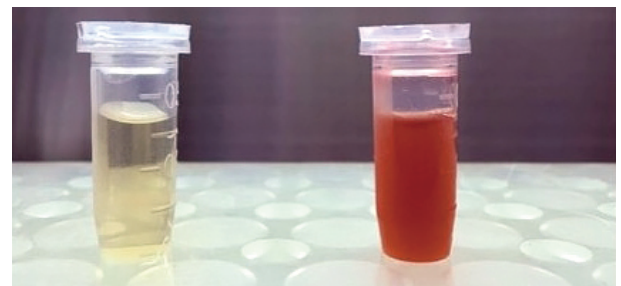


圖 2 芽孢桿菌快速檢測套組的呈色反應